

МЕТОД ЗАМЕЩЕНИЯ КОСТНО-ХРЯЩЕВЫХ ДЕФЕКТОВ КРУПНЫХ СУСТАВОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

DOI: 10.17691/stm2019.11.3.07

УДК 616.71–018.3–089.844

Поступила 17.09.2018 г.

© **Г.А. Айрапетов**, к.м.н., доцент кафедры травматологии и ортопедии с курсом ДПО¹;
А.А. Воротников, д.м.н., профессор, зав. кафедрой травматологии и ортопедии с курсом ДПО¹;
А.А. Венедиктов, к.б.н., директор²;
Н.В. Загородный, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, зав. кафедрой травматологии и ортопедии³

¹Ставропольский государственный медицинский университет, ул. Мира, 310, Ставрополь, 355017;²Научно-производственная компания ООО «Кардиоплант», ул. Центральная, 1, Пенза, 440004;³Российский университет дружбы народов, ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, 117198

Цель исследования — разработка нового способа лечения костно-хрящевых дефектов коленного сустава, заключающегося во введении под коллагеновую мембрану плазмы, обогащенной тромбоцитами, и измельченного гиалинового хряща, и его оценка в эксперименте.

Материалы и методы. Проведено проспективное исследование на мелком рогатом скоте в количестве 30 особей, возраст животных — 1,5–3 года, масса — 20–30 кг. У всех особей выполнялся полнослойный дефект до субхондральной кости диаметром 4,5 мм. В качестве контроля у каждого животного в одном из суставов дефект не замещался. В зависимости от метода замещения все животные были разделены на три группы. В одной группе замещение производили по разработанному нами методу: использовали внеклеточный коллагеновый матрикс и собственные ресурсы организма (плазму, обогащенную тромбоцитами, и измельченный аутохрящ).

Результаты. Результаты оценивали через 1 мес и 3 мес, анализируя характер и степень заполнения дефекта. Лучшие результаты были получены в группе, где дефект закрывался внеклеточным коллагеновым матриксом, дополненным плазмой, обогащенной тромбоцитами, и измельченным аутохрящом. В группе без замещения дефекта полученные данные сопоставимы с исследованиями других авторов, согласно которым костно-хрящевые дефекты практически не регенерируют самостоятельно.

Заключение. Предложенная методика замещения костно-хрящевого дефекта с применением внеклеточного коллагенового матрикса, аутохряща и плазмы, обогащенной тромбоцитами, является менее агрессивной в сравнении с аутохондропластикой, а полученные результаты более стабильны по сравнению с микрофрактурированием или туннелизацией.

Ключевые слова: костно-хрящевой дефект; регенерация гиалинового хряща; внеклеточный коллагеновый матрикс; аутохрящ; PRP; плазма, обогащенная тромбоцитами.

Как цитировать: Airapetov G.A., Vorotnikov A.A., Venediktov A.A., Zagorodny N.V. Replacement of osteochondral defects of major joints in experiment. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(3): 55–59, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.3.07>

English

Replacement of Osteochondral Defects of Major Joints in Experiment

G.A. Airapetov, MD, PhD, Associate Professor, Traumatology and Orthopedics Department with CPE Course¹;**A.A. Vorotnikov**, MD, DSc, Professor, Head of Traumatology and Orthopedics Department with CPE Course¹;**A.A. Venediktov**, PhD, Director²;**N.V. Zagorodny**, MD, DSc, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of Traumatology and Orthopedics Department³¹Stavropol State Medical University, 310 Mira St., Stavropol, 355017, Russia;²Research and Production Company "Cardioplant", 1 Tsentral'naya St., Penza, 440004, Russia;³Peoples' Friendship University of Russia, 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow, 117198, Russia

The aim of the study was to develop a novel treatment method of knee osteochondral defects consisting in injecting platelet-rich plasma and crushed hyaline cartilage under a collagen membrane, and assess the technique in experiment.

Materials and Methods. A prospective study was carried out on small cattle animals, 30 in number, aged 1.5–3 years weighing

Для контактов: Айрапетов Георгий Александрович, e-mail: AirapetovGA@yandex.ru

20–30 kg. All subjects got a full-thickness defect to the subchondral bone, 4.5 mm in diameter. As a control, one of the joint defects was not replaced. Due to a replacement method, all animals were divided into three groups. One group animals underwent the replacement according to the developed technique: there were used an extracellular collagen matrix and the body resources (platelet-rich plasma and crushed autologous cartilage).

Results. The results were assessed 1 month and 3 months after surgery analyzing the type and degree of defect filling. Best results were found in the group, where a defect was covered by an extracellular collagen matrix with platelet-rich plasma and crushed autologous cartilage. The results of the no replacement group were comparable with the findings of other researchers, according to which osteochondral defects almost have no self-regeneration.

Conclusion. The suggested replacement technique for osteochondral defect using extracellular collagen matrix, autologous cartilage, and platelet-rich plasma is less aggressive compared to autochondroplasty, and the obtained results are more stable compared to microfracture or tunneling.

Key words: osteochondral defect; hyaline cartilage regeneration; extracellular collagen matrix; auto-cartilage; PRP; platelet-rich plasma.

Введение

Одной из частых жалоб пациентов на приеме у ортопеда является боль в суставе [1, 2]. По некоторым данным, у 60% таких пациентов определяется хондромалиция гиалинового хряща различной степени [3]. Спектр консервативных методов лечения — широкий, однако эффективность их остается недостаточной [4–6]. На таком фоне продолжают активно развиваться хирургические методики [7–10].

Одной из самых простых методик, которая была предложена еще в 60-х годах, является туннелизация. Несмотря на то, что эта методика применяется и сегодня, отдаленные результаты многими оцениваются как неудовлетворительные [11, 12]. Наиболее популярным сегодня хирургическим методом лечения хондромалиции является микрофрактурирование. Однако следует отметить, что и данная методика имеет ряд недостатков, таких как неустойчивость новообразованной ткани к нагрузкам и прогрессирование развития дегенеративно-дистрофических процессов [12, 13].

Целью работы послужила разработка нового способа лечения костно-хрящевых дефектов коленного сустава, заключающегося во введении под коллагеновую мембрану плазмы, обогащенной тромбоцитами, и измельченного гиалинового хряща, и его оценка в эксперименте.

Материалы и методы

Проведено проспективное исследование на мелком рогатом скоте — овцах (n=30), возраст животных составил 1,5–3 года, масса — 20–30 кг. Выбор экспериментальных животных обусловлен схожестью анатомии коленного сустава овцы и человека и, соответственно, возможностью создания модели костно-хрящевого дефекта, идентичного человеческому. Данные животные хорошо реагируют на анестезию и могут применяться в качестве экспериментальных на территории России. При работе были соблюдены все требования закона «О защите животных от жестокого обращения» от 1.12.1999 г.

Овцы были разделены на три группы по 10 особей

(20 коленных суставов) в зависимости от способа замещения костно-хрящевого дефекта. В каждой группе у всех животных в одном из суставов выполняли дефект без замещения, который служил контролем. Дефект диаметром 4,5 мм формировался вплоть до субхондральной кости на нагружаемой поверхности внутреннего мыщелка бедра. В 1-ю группу были включены животные, которым дефект коленного сустава замещали коллагеновой мембраной; во 2-й под коллагеновую мембрану вводили плазму, обогащенную тромбоцитами (PRP), а в 3-й группе дополнительно использовали измельченный гиалиновый хрящ из ненагружаемой поверхности сустава.

В качестве анестетика использовали 0,5 мл 2% раствора Рометара. Процедуры выполняли в положении животного на боку. После стрижки шерсти зону вмешательства трижды обрабатывали растворами антисептиков. Конечность фиксировали в согнутом положении. Выполняли хирургический доступ 4 см латеральнее собственной связки надколенника. Потом рассекали подкожно-жировую клетчатку, капсулу сустава и обеспечивали доступ к коленному суставу. Выполняли костно-хрящевой дефект фрезой для мозаичной аутохондропластики диаметром 4,5 мм (рис. 1). Затем использовали один из указанных методов замещения дефекта. Рана ушивалась послойно, без оставления дренажа в послеоперационной ране.

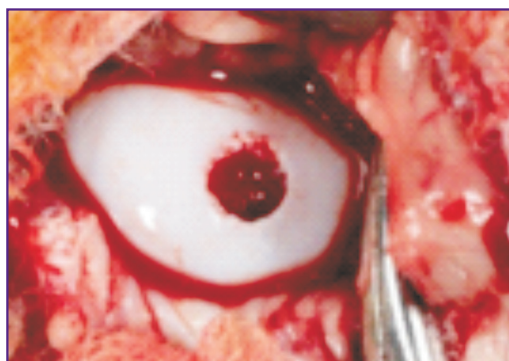


Рис. 1. Полнослойный дефект нагружаемой поверхности коленного сустава овцы

Все овцы содержались в виварии, предназначенном для содержания животных, согласно законодательству РФ. Нагрузку на конечность разрешали давать сразу после операции.

Полученный материал изучали визуально и морфологически с использованием световой микроскопии.

Для морфологического исследования материал фиксировали 10% формалином и обезжизивали.

В данной статье представлены результаты, полученные у животных без замещения дефекта (контроль) и в 3-й группе через 3 мес после операции.

Результаты

Необходимо отметить, что ни в одной из групп мы не отмечали воспалительных изменений в суставе. Раны заживали первичным натяжением.

Через 3 мес после операции у животных без

замещения дефекта определяли «минус-ткань», дно костно-хрящевого дефекта было эрозировано, практически не заполнено, граница между зоной дефекта и собственным гиалиновым хрящем прослеживалась четко (рис. 2).

В группе с замещением дефекта коллагеновой мембраной, PRP и измельченным аутохрящом тоже определяли «минус-ткань», которая составляла 2/3 толщины дефекта. Края костно-хрящевого дефекта были ровными, не определялась эрозированная поверхность, а граница между новообразованной тканью и гиалиновым суставным хрящом прослеживалась менее четко (рис. 3).

Морфологически у животных без замещения дефекта через 3 мес определялся тонкий, прерывистый слой новообразованной ткани. По периферии дефекта хрящевая ткань была значительно большей толщины, нежели в его дне, где толщина составляла 1/3 толщины сформированного дефекта (рис. 4).

В 3-й группе через 3 мес визуализировался более стабильный слой. Гиалиноподобная ткань по периферии дефекта была значительно большей толщины, чем в глубине, где толщина составляла 2/3 толщины дефекта. Костные балки и субхондральная костная пластинка, которые прилежали к дефекту, были сформированы не на всем протяжении дна. Пластинки были утолщены, межучточное вещество наблюдалось в большом количестве, балки располагались хаотично (рис. 5).



Рис. 2. Макроскопическая картина у животных без замещения костно-хрящевого дефекта через 3 мес



Рис. 3. Макроскопическая картина у животных с замещением дефекта предлагаемым способом через 3 мес

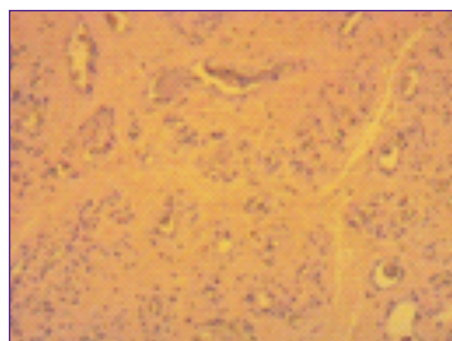


Рис. 4. Микроскопическая картина в зоне дефекта без замещения ткани

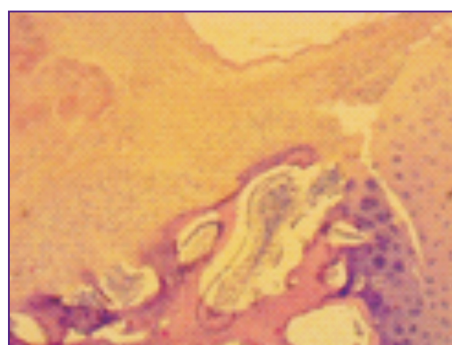


Рис. 5. Микроскопическая картина в зоне дефекта после его замещения предложенным способом через 3 мес

Обсуждение

Все больше утверждается мысль, что костно-хрящевые дефекты крупных суставов требуют хирургического лечения [14]. В большинстве случаев такие дефекты определяются на МРТ, что дает возможность подобрать адекватный метод их замещения. На сегодняшний день артроскопический дебридмент зоны повреждения гиалинового хряща дает хорошие результаты при дополнительном применении методики микрофрактурирования дефекта [15, 16]. Однако, по мнению ряда авторов, такой способ лечения не позволит полноценно заместить зону дефекта, а получаемый регенерат быстро лизируется [17, 18]. Одной из самых оптимальных, по нашему мнению, методик замещения таких дефектов является мозаичная аутохондропластика. Она позволяет полноценно заместить дефект в нагружаемой части сустава, однако донорская зона может вызывать болевой синдром и провоцировать быстрое прогрессирование дегенеративно-дистрофических заболеваний сустава [19].

Сегодня активно развиваются методы культивирования хондроцитов и имплантации их в зону дефекта на матрице либо под материал, ограничивающий зону дефекта от полости сустава. К таким методам относятся трансплантация аутологических хондроцитов (ACI) и индуцированный матрицей аутогенный хондрогенез (AMIC). Оба метода показывают хорошие результаты, однако при ACI необходимо выполнять два оперативных вмешательства, а AMIC отличается высокой ценой [19, 20].

Методы, в которых используются мезенхимальные стволовые клетки, являются перспективным направлением, однако и они имеют ряд недостатков [21, 22].

В описываемой нами методике применяются коллагеновая мембрана и некоторые собственные ресурсы организма, а именно плазма, обогащенная тромбоцитами, и измельченный аутохрящ. Данная методика выполняется во время одного вмешательства в отличие от методики ACI, а техника является менее агрессивной по сравнению с мозаичной аутохондропластикой. Полученные нами результаты у животных без замещения дефекта сопоставимы с данными аналогичных работ, проводимых другими авторами. В группе животных, у которых костно-хрящевой дефект закрывался предлагаемым способом, получены наиболее оптимистичные результаты: дефект хорошо регенерировал и закрывался на 2/3, а морфологически удалось проследить архитектуру гиалиноподобной хрящевой ткани, что, по нашему мнению, может дополнительно свидетельствовать о хороших результатах.

Заключение

Через 3 мес после применения методики замещения костно-хрящевого дефекта коллагеновой мембраной с добавлением плазмы, обогащенной тромбоци-

тами, и измельченного аутохряща можно говорить о хороших промежуточных результатах. Данная методика позволила добиться практически полного замещения дефекта и воссоздать участки регенерата с архитектурой, свойственной нормальному гиалиновому хрящу.

Финансирование исследования. Работа проведена за счет средств Ставропольского государственного медицинского университета.

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Божокин М.С., Божкова С.А., Нетьлько Г.И. Возможности современных клеточных технологий для восстановления поврежденного суставного хряща (аналитический обзор литературы). *Травматология и ортопедия России* 2016; 22(3): 122–134. Bozhokin M.S., Bozhkova S.A., Netylko G.I. Possibilities of current cellular technologies for articular cartilage repair (analytical review). *Travmatologiya i ortopediya Rossii* 2016; 22(3): 122–134.
2. Белоусова Т.Е., Карпова Ж.Ю., Ковалева М.В. Влияние низкочастотной магнитосветотерапии на динамику электромиографических показателей в процессе медицинской реабилитации пациентов с сочетанной патологией позвоночника и крупных суставов. *Современные технологии в медицине* 2011; 3(2): 77–80. Belousova T.E., Karpova Zh.Y., Kovalyova M.V. The influence of low-frequency magnetophototherapy on the dynamics of electromyographic indexes in the rehabilitation of patients with combined pathology of the spine and major joints. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2011; 3(2): 77–80.
3. Ежов М.Ю., Ежов И.Ю., Кашко А.К., Каюмов А.Ю., Зыкин А.А., Герасимов С.А. Нерешённые вопросы регенерации хрящевой и костной ткани (обзорно-аналитическая статья). *Успехи современного естествознания* 2015; 5: 126–131. Yezhov M.Y., Yezhov I.Y., Kashko A.K., Kayumov A.Y., Zykin A.A., Gerasimov S.A. Unresolved issues of the cartilage and the bone regeneration (review). *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya* 2015; 5: 126–131.
4. Чичасова Н.В. Клиническое обоснование применения различных форм препарата терафлекс при остеоартрозе. *Современная ревматология* 2010; 4(4): 59–64. Chichasova N.V. Clinical rationale for the use of various teraflex formulations in osteoarthritis. *Sovremennaya revmatologiya* 2010; 4(4): 59–64.
5. Andia I., Abate M. Knee osteoarthritis: hyaluronic acid, platelet-rich plasma or both in association? *Expert Opin Biol Ther* 2014; 14(5): 635–649, <https://doi.org/10.1517/14712598.2014.889677>.
6. Chang K.-V., Hung C.-Y., Aliwarga F., Wang T.-G., Han D.-S., Chen W.-S. Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis. *Arch Phys Med Rehabil* 2014; 95(3): 562–575, <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2013.11.006>.
7. Dhollander A., Moens K., Van der Maas J., Verdonk P., Almqvist K.F., Victor J. Treatment of patellofemoral cartilage defects in the knee by autologous matrix-induced chondrogenesis (AMIC). *Acta Orthop Belg* 2014; 80(2): 251–259.

8. Тепляшин А.С., Шарифуллина С.З., Чуликова Н.И., Сепиашвили Р.И. Перспективы использования мультипотентных мезенхимных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани в регуляции регенерации опорных тканей. *Аллергология и иммунология* 2015; 16(1): 138–148. Teplyashin A.S., Sharifullina S.Z., Chupikova N.I., Sepiashvili R.I. The perspective of use of multipotent mesenchymal stromal cells isolated from bone marrow and adipose tissue in regulation of regeneration of bone and cartilage tissues. *Allergologiya i immunologiya* 2015; 16(1): 138–148.

9. Козадаев М.Н. Применение матриц на основе поликапролактона для стимуляции регенерации суставного хряща в условиях эксперимента. *Теоретические и прикладные аспекты современной науки* 2014; 3–2: 128–130. Kozadaev M.N. Use of polycaprolactone-based matrices to stimulate the articular cartilage regeneration in experimental conditions. *Teoreticheskie i prikladnye aspekty sovremennoy nauki* 2014; 3–2: 128–130.

10. Ulstein S., Årøen A., Røtterud J.H., Løken S., Engebretsen L., Heir S. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2014; 22(6): 1207–1215, <https://doi.org/10.1007/s00167-014-2843-6>.

11. Pridie K.H., Gordon G. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg* 1959; 41(3): 618–619.

12. Ewers B.J., Dvoracek-Driksna D., Orth M.W., Haut R.C. The extent of matrix damage and chondrocyte death in mechanically traumatized articular cartilage explants depends on rate of loading. *J Orthop Res* 2001; 19(5): 779–784, [https://doi.org/10.1016/s0736-0266\(01\)00006-7](https://doi.org/10.1016/s0736-0266(01)00006-7).

13. Шевцов В.И., Макушин В.Д., Ступина Т.А., Степанов М.А. Экспериментальные аспекты изучения репаративной регенерации суставного хряща в условиях туннелирования субхондральной зоны с введением аутологичного костного мозга. *Гений ортопедии* 2010; 2: 5–10. Shevtsov V.I., Makushin V.D., Stupina T.A., Stepanov M.A. The experimental aspects of studying articular cartilage reparative regeneration under subchondral zone tunneling with autologous bone marrow infusion. *Geniy ortopedii* 2010; 2: 5–10.

14. Советников Н.Н., Кальсин В.А., Конопляников М.А.,

Муханов В.В. Клеточные технологии и тканевая инженерия в лечении дефектов суставной поверхности. *Клиническая практика* 2013; 1: 52–66. Sovetnikov N.N., Kalsin V.A., Konoplyannikov M.A., Mukhanov V.V. Cell technologies and tissue engineering in the treatment of articular chondral defects. *Klinicheskaya praktika* 2013; 1: 52–66.

15. Steadman J.R., Briggs K.K., Rodrigo J.J., Kocher M.S., Gill T.J., Rodkey W.G. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy* 2003; 19(5): 477–484, <https://doi.org/10.1053/jars.2003.50112>.

16. Kreuz P.C., Erggelet C., Steinwachs M.R., Krause S.J., Lahm A., Niemeyer P., Ghanem N., Uhl M., Südkamp N. Is microfracture of chondral defects in the knee associated with different results in patients aged 40 years or younger? *Arthroscopy* 2006; 22(11): 1180–1186, <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2006.06.020>.

17. Ulstein S., Årøen A., Røtterud J.H., Løken S., Engebretsen L., Heir S. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2014; 22(6): 1207–1215, <https://doi.org/10.1007/s00167-014-2843-6>.

18. Knutsen G., Engebretsen L., Ludvigsen T.C., Drogset J.O., Grøntvedt T., Solheim E., Strand T., Roberts S., Isaksen V., Johansen O. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86(3): 455–464.

19. Jacobi M., Villa V., Magnussen R.A., Neyret P. MACI — a new era? *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol* 2011; 3(1), <https://doi.org/10.1186/1758-2555-3-10>.

20. Khan W.S., Johnson D.S., Hardingham T.E. The potential of stem cells in the treatment of knee cartilage defects. *Knee* 2010; 17(6): 369–374, <https://doi.org/10.1016/j.knee.2009.12.003>.

21. Mafi R. Sources of adult mesenchymal stem cells applicable for musculoskeletal applications — a systematic review of the literature. *Open Orthop J* 2011; 5(1): 242–248, <https://doi.org/10.2174/1874325001105010242>.

22. Zhai L.J., Zhao K.Q., Wang Z.Q., Feng Y., Xing S.C. Mesenchymal stem cells display different gene expression profiles compared to hyaline and elastic chondrocytes. *Int J Clin Exp Med* 2011; 4(1): 81–90.